

# CÔNG NGHỆ MÃ HÓA MẶT SÓNG CHO MỞ RỘNG ĐỘ SÂU TRƯỜNG KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC

TS. Lê Văn Nhu<sup>2</sup>, TS. Lê Hoàng Oanh<sup>1</sup>,  
PGS.TS Hoàng Minh Chung<sup>1</sup>, ThS. Hà Thị Yến<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Hòa Bình

<sup>2</sup>Học viện Kỹ thuật quân sự

Tác giả liên hệ: levannhuktq@gmail.com

Ngày nhận: 03/8/2023

Ngày nhận bản sửa: 28/8/2023

Ngày duyệt đăng: 25/9/2023

## Tóm tắt

Công nghệ mã hóa mặt sóng là một công nghệ mạnh được sử dụng cho mở rộng độ sâu trường của hệ thống quang học. Ở bài báo này, chúng tôi phát triển công nghệ mã hóa mặt sóng vào kính hiển vi quang học thông thường mà không làm thay đổi kết cấu bên trong của kính. Kết quả thực nghiệm đã chỉ ra khả năng quan sát được mẫu vật trong một độ sâu trường lớn so với kính hiển vi quang học chưa ứng dụng công nghệ mã hóa mặt sóng.

**Từ khóa:** Mở rộng độ sâu trường, kính hiển vi.

## Wavefront Encoding Technology for Enhanced Depth of Field in Optical Microscopy

Dr. Le Van Nhu<sup>2</sup>, Dr. Le Hoang Oanh<sup>1</sup>,  
Assoc.Prof.Dr. Hoang Minh Chung<sup>1</sup>, MA. Ha Thi Yen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hoa Binh University

<sup>2</sup>Military Technical Academy

Corresponding author: levannhuktq@gmail.com

## Abstract

Wavefront encoding technology is a powerful technique used for extending the depth of field in optical systems. In this article, we develop wavefront encoding technology for conventional optical microscopy without altering the internal structure of the microscope. Experimental results demonstrate the ability to observe specimens with a significantly extended depth of field compared to traditional optical microscopy without wavefront encoding.

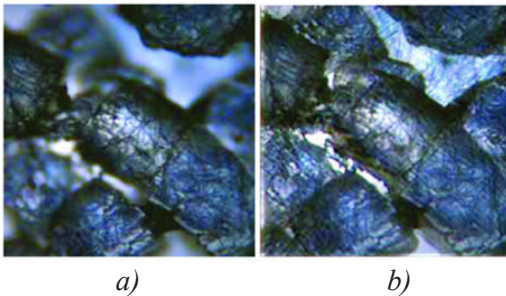
**Keywords:** Depth of field extension, optical microscopy.

## 1. Giới thiệu

Trường Đại học Hòa Bình chuyên đào tạo bác sĩ và điều dưỡng, mà ở đó, kính hiển vi là thiết bị thường xuyên được sử dụng vào quan sát các mẫu bệnh phẩm. Nó là một thiết bị quan trọng dùng để quan sát và thu nhận hình ảnh của các mẫu vật sinh học có kích

thước nhỏ và được trang bị phổ biến ở quá trình học tập của sinh viên. Với một kính hiển vi có khẩu độ số (NA) xác định, độ sâu trường và độ phân giải ngang là hai thông số rất quan trọng, phản ánh chất lượng cũng như khả năng quan sát các mẫu vật nhỏ của thiết bị [1]. Trong khi độ sâu trường xác định

khoảng không gian dọc trục cho hình ảnh sắc nét thì độ phân giải ngang lại đại diện cho khoảng cách nhỏ nhất giữa hai điểm trên mẫu vật mà người quan sát còn phân biệt. Tuy nhiên, các kính hiển vi quang học truyền thống chịu một sự đánh đổi giữa độ phân giải ngang và độ sâu trường, đó là, độ phân giải ngang mong muốn càng cao thì độ sâu trường càng hẹp. Với bước sóng ánh sáng  $\lambda$  và khẩu độ số NA, độ sâu trường của kính hiển vi bằng  $0,5\lambda/NA^2$  và độ phân giải ngang bằng  $0,6\lambda/NA$  [2]. Nhằm mục đích quan sát các vật có kích thước ba chiều, hệ thống quang học cần có một độ sâu trường lớn.



**Hình 1.**

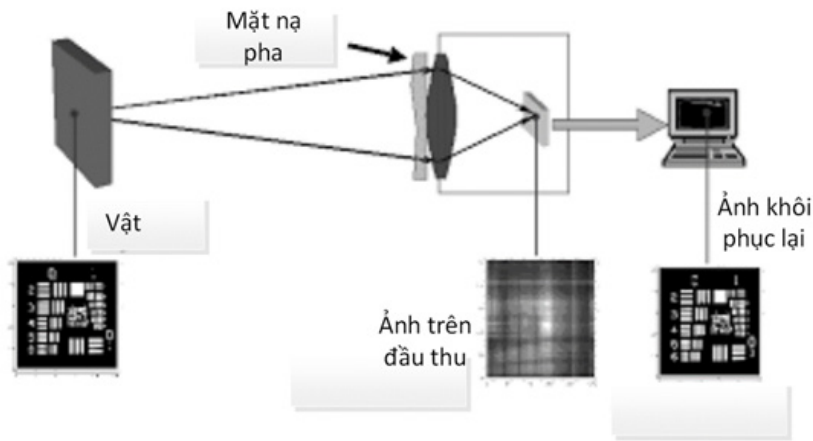
(a) Hình ảnh qua kính hiển vi của mẫu có độ dày lớn hơn độ sâu trường và (b) Độ dày mẫu nằm trong độ sâu trường

Quá trình quan sát mẫu thường được thực hiện theo hai bước. Bước một, chúng ta sử dụng vật kính hiển vi với giá trị NA thấp để quan sát, tìm kiếm khu vực mẫu cần quan tâm. Vật kính hiển vi với giá trị NA thấp có thị giới rộng, độ sâu trường lớn nên thuận lợi cho tìm kiếm khu vực mẫu cần quan sát. Tuy nhiên, độ phân giải của nó thấp nên chưa thể nhìn rõ chi tiết mẫu. Để nhìn rõ chi tiết phần mẫu đã định vị, chúng ta cần chuyển sang sử dụng vật kính hiển vi với giá trị NA cao. Vật kính hiển vi với giá trị NA cao cho phép quan sát rõ chi tiết mẫu. Tuy nhiên, độ sâu trường của vật kính hiển vi này thường ngắn. Do vậy, khi chúng ta sử dụng vật kính hiển vi này quan sát các mẫu dày thì độ dày

của mẫu thường lớn hơn độ sâu trường, cho nên, ảnh thu được sẽ có phần rõ nét và phần mờ như chỉ ra ở Hình 1(a). Các phần mẫu nằm trong độ sâu trường sẽ có ảnh sắc nét, trong khi, các phần mẫu nằm ngoài độ sâu trường sẽ bị mờ. Nếu ảnh mờ và ảnh rõ nét bị trộn vào nhau sẽ đưa đến ảnh không thật sự sắc nét. Do đó, để có thể quan sát rõ nét từng phần của mẫu, chúng ta cần thực hiện dịch chuyển thấu kính hiển vi hoặc dịch chuyển mẫu để đưa từng phần này vào độ sâu trường để nhận được ảnh sắc nét. Điều này sẽ làm tốn nhiều thời gian và không thuận tiện cho chẩn đoán bệnh trực tuyến khi hiện nay công nghệ kết nối Internet đang được ứng dụng rộng rãi hỗ trợ cho khám chữa bệnh. Vì vậy, mở rộng độ sâu trường cho kính hiển vi quang học có ý nghĩa rất lớn cho quan sát vật mẫu ba chiều. Trong bài báo này, chúng tôi đã phát triển ứng dụng công nghệ mã hóa mặt sóng vào kính hiển vi quang học thông thường cho phép mở rộng độ sâu trường nhằm mục đích quan sát thuận lợi hơn các mẫu bệnh phẩm dày. Điều này sẽ hỗ trợ tích cực quá trình học tập cho sinh viên.

## 2. Phương pháp mã hóa mặt sóng

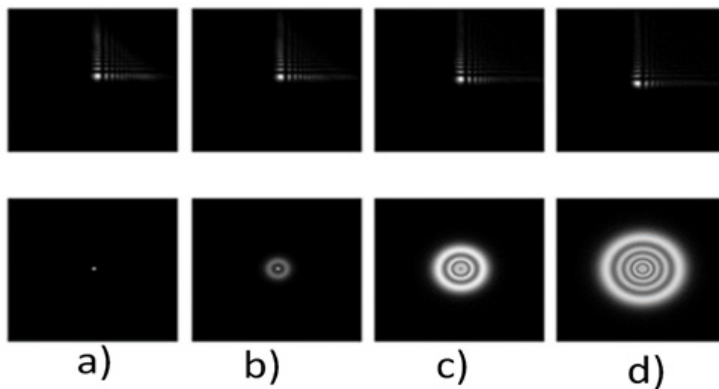
Phương pháp mã hóa mặt sóng được giới thiệu lần đầu tiên vào năm 1995 cho phép mở rộng độ sâu trường [3]. Ở phương pháp này, một thành phần mã hóa mặt sóng sẽ được đưa thêm vào hệ thống quang học truyền thống nhằm mục đích nhận được hàm nhòe điểm bất biến trên một khoảng rộng độ sâu trường. Hình 2 biểu diễn sơ đồ của một hệ thống quang học mã hóa mặt sóng. Thành phần mã hóa mặt sóng có chức năng làm thay đổi mặt sóng ra của hệ thống quang học nhằm mục đích đưa đến hàm nhòe điểm bất biến trên một khoảng rộng của độ sâu trường so với hàm nhòe điểm của hệ thống quang học truyền thống.



**Hình 2.** Sơ đồ nguyên lý của phương pháp mã hóa mặt sóng. Một thành phần làm thay đổi mặt sóng được đặt vào hệ thống quang học truyền thống.

Hình 3 biểu diễn hàm nhòe điểm của hệ thống quang học truyền thống và hệ thống quang học mã hóa mặt sóng ở các vị trí khác nhau. Hàm nhòe điểm của hệ thống quang học mã hóa mặt sóng là các hình phía trên, trong khi, hàm nhòe điểm của hệ thống quang học truyền thống là các hình ở phía dưới. Có thể thấy rằng hàm nhòe điểm của hệ thống quang học truyền thống tại vị trí (a) là tốt nhất, nó có kích thước nhỏ nên ảnh thu được trên đầu thu sẽ rõ ràng và sắc nét. Khi mặt phẳng ảnh dịch khỏi vị trí này, kích thước hàm nhòe điểm của hệ thống quang học truyền thống tăng nhanh. Tại vị trí (b), hệ thống quang học truyền thống vẫn cho ảnh chất lượng tốt.

Tuy nhiên, tại các vị trí (c) và (d), chất lượng ảnh bị nhòe và không còn rõ ràng, bởi vì, lúc này, mặt phẳng ảnh đã ra khỏi giới hạn độ sâu trường cho ảnh sắc nét. Đối với hệ thống quang học mã hóa mặt sóng, chúng ta có thể thấy rằng hình dạng và kích thước của hàm nhòe điểm gần như bất biến trên một khoảng rộng của độ sâu trường (như nhau tại các vị trí a, b, c và d). Tuy nhiên, chúng ta cũng có thể thấy rằng kích thước hàm nhòe điểm của hệ thống quang học này bị trải rộng ra. Do vậy, ảnh thu nhận được trên đầu thu camera là mờ đồng đều và chưa sắc nét. Vì vậy, cần thêm bước xử lý ảnh để thu nhận lại ảnh sắc nét của mẫu vật.

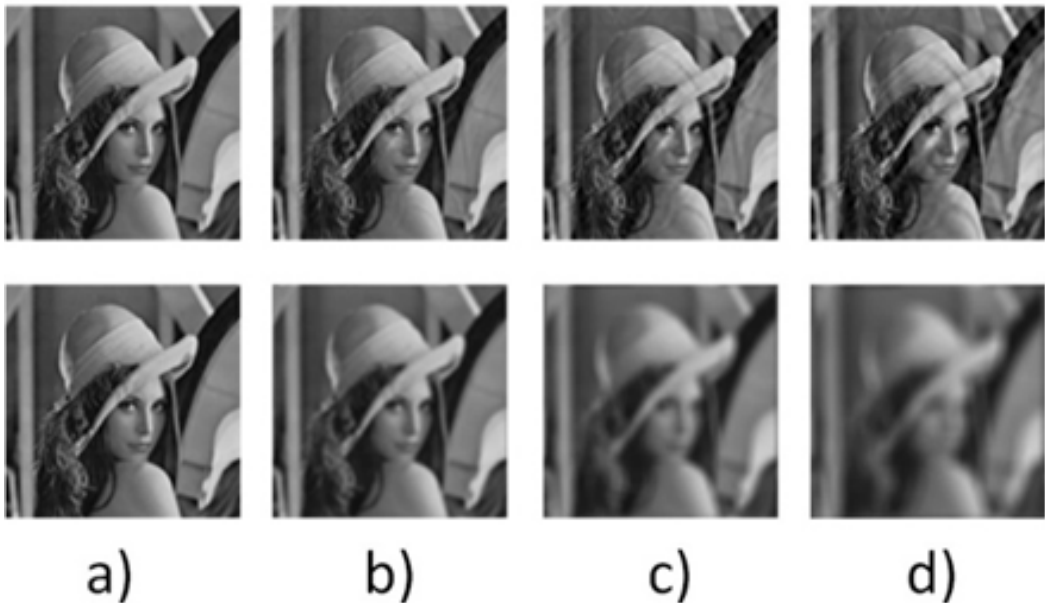


**Hình 3.** Vết nhòe điểm tại các vị trí có độ sâu trường khác nhau

Các hình phía trên là vết hàm nhòe điểm cho hệ thống quang học mã hóa mặt sóng, các hình phía dưới là vết hàm nhòe điểm cho hệ thống quang học thông thường. Vị trí (a) là nơi có hàm nhòe điểm tốt nhất đối với kính hiển vi thông thường, trong khi, các vị trí (b), (c) và (d) là ứng với độ sâu trường tăng lên.

Bởi vì hàm nhòe điểm của hệ thống quang học mã hóa mặt sóng gần như bất biến trên một khoảng rộng độ sâu trường, nên chúng ta có thể sử dụng một hàm nhòe điểm tại vị trí (a) của hệ thống quang học mã hóa mặt sóng để khôi phục lại ảnh sắc nét trên toàn bộ độ sâu trường bằng phép toán cuộn nghịch đảo [4], và các thuật toán khôi phục ảnh [5, 6].

Hình 4 chỉ ra các ảnh của hệ thống quang học truyền thống (phía dưới) và các ảnh khôi phục của hệ thống quang học mã hóa mặt sóng mà tương ứng với hàm nhòe điểm ở Hình 3. Đối với hệ thống quang học truyền thống, ảnh tại vị trí Hình 4(a) có chất lượng ảnh tốt nhất. Trong khi, ảnh tại vị trí Hình 4(b) vẫn còn chấp nhận được. Tuy nhiên, ảnh tại Hình 4(c) và 4(d) mờ và không rõ ràng. Đối với hệ thống quang học mã hóa mặt sóng, sử dụng hàm nhòe điểm tại vị trí Hình 3(a) cho khôi phục ảnh sắc nét. Có thể thấy rằng, ảnh của hệ thống quang học mã hóa mặt sóng sắc nét trên toàn bộ độ sâu trường này. Tuy nhiên, vẫn còn nhiều xuất hiện trên ảnh khôi phục tại các Hình 4(c) và 4(d).



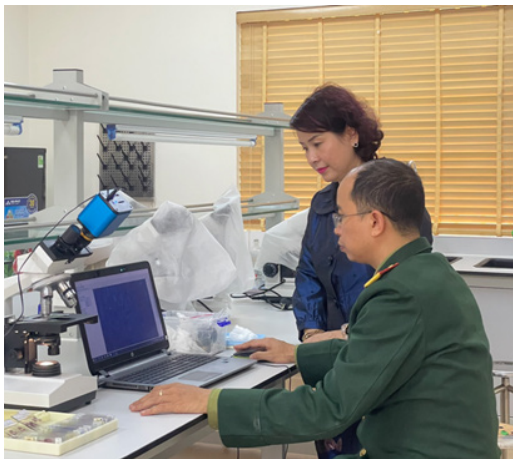
**Hình 4.** Ảnh cho các vị trí độ sâu trường khác nhau

Hình phía trên là ảnh cho bởi hệ thống quang học mã hóa mặt sóng, hình phía dưới là ảnh cho bởi hệ thống quang học thông thường. Vị trí (a) là nơi có ảnh tốt nhất đối với hệ thống quang học thông thường, trong khi, các vị trí (b), (c) và (d) là ứng với độ sâu trường tăng lên.

### 3. Thục nghiệm

Mô hình thiết bị thực nghiệm ứng dụng công nghệ mã hóa mặt sóng vào kính hiển vi quang học được chỉ ra trên Hình 5. Một mặt nạ pha đã được tính toán và gia công thành công. Mặt nạ pha này được gắn ngay sau vật kính hiển vi ở Trường Đại học Hòa Bình như chỉ ra

trên Hình 5. Với phương án lắp đặt này, chúng ta có thể sử dụng linh hoạt giữa kính hiển vi có mặt nạ pha hoặc không có mặt nạ pha. Ở thiết bị này, vật kính hiển vi được sử dụng có  $NA = 0.65$  và độ phóng đại  $\Gamma = 40\times$ .

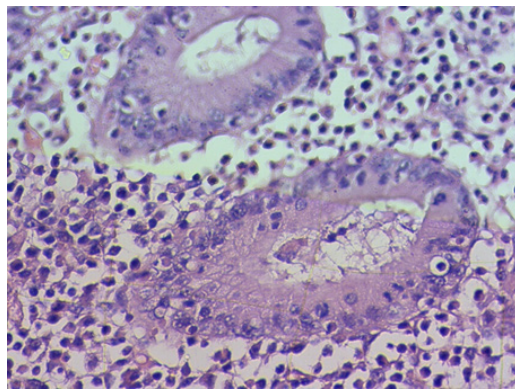


**Hình 5.** Ảnh thực nghiệm trên kính hiển vi quang học tại Trường Đại học Hòa Bình

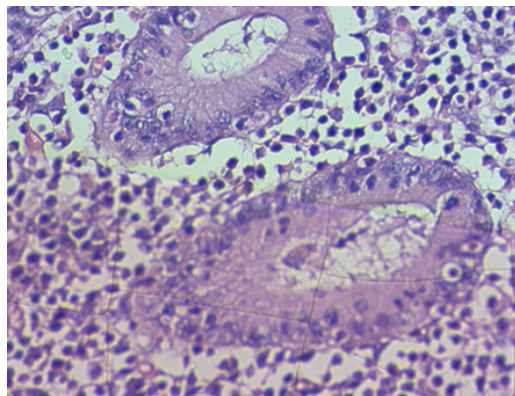
Để chứng minh cho khả năng mở rộng độ sâu trường cho kính hiển vi có mặt nạ pha, chúng tôi sử dụng mẫu bệnh phẩm dạng bậc. Nghĩa là mẫu bệnh phẩm sẽ được đặt trên hai mặt phẳng chênh cao khoảng  $6\mu\text{m}$ . Trong trường hợp kính hiển vi không có mặt nạ pha, ảnh thu nhận được chỉ ra ở Hình 6. Từ Hình 6(a) và 6(b), có thể thấy rằng kính hiển vi quang học không có mặt nạ pha không thể nhìn rõ nét đồng thời hình ảnh của mẫu bệnh phẩm ở hai mặt phẳng. Ở

Hình 6(a), mẫu bệnh phẩm ở phía dưới sắc nét và rõ ràng, trong khi, ở phía trên thì bị mờ. Ở Hình 6(b), mẫu bệnh phẩm ở phía trên thì sắc nét, rõ ràng, trong khi, ở phía dưới thì bị mờ. Điều này nghĩa rằng độ sâu trường của kính hiển vi không có mặt nạ pha nhỏ hơn độ chênh cao giữa hai mặt phẳng.

Ảnh của mẫu bệnh phẩm với kính hiển vi có mặt nạ pha được chỉ ra ở Hình 7. Từ Hình 7, có thể thấy rằng ảnh nhận được của kính hiển vi có mặt nạ pha có chất lượng tốt, rõ ràng trên hai mặt phẳng và có chất lượng ảnh gần với các phần ảnh tốt nhất của các phần ảnh ở Hình 6. Điều này nghĩa rằng công nghệ mã hóa mặt sóng đã được tích hợp thành công vào kính hiển vi quang học và cho phép mở rộng độ sâu trường.

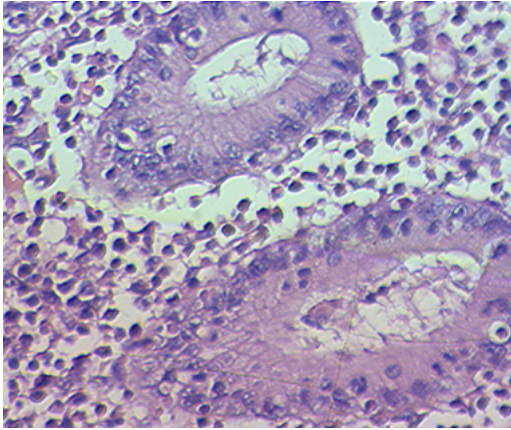


a)



b)

**Hình 6.** Ảnh nhận được với hệ thống quang học không có mặt nạ pha



**Hình 7.** Ảnh nhận được với hệ thống quang học có mặt nạ pha

#### 4. Kết luận

Ở bài báo này, chúng tôi đã phát

triển thành công ứng dụng công nghệ mã hóa mặt sóng vào kính hiển vi quang học thông thường cho phép mở rộng độ sâu trường. Thiết bị thực nghiệm đã được xây dựng và kết quả thực nghiệm đã nhận được cho chứng minh khả năng mở rộng độ sâu trường. Công nghệ này mở ra khả năng quan sát các mẫu dày và các mẫu chuyển động mà đưa đến hình ảnh rõ nét.

*Tài trợ: Kết quả nghiên cứu được tài trợ bởi đề tài của Sở Khoa học và Công nghệ Hà Nội, mã số 01C-01/02-2021-3.*

#### Tài liệu tham khảo

- [1]. Y. Zhou, M. Handley, G. Carles, and A.R. Harvey, “Advances in 3D single particle localization microscopy”, *APL Photonics*, Vol. 4, pp. 060901, 2019.
- [2]. J. A. Conchell and J. W. Lichtman, “Optical sectioning microscopy”, *Nature methods*, Vol.2, pp. 920, 2005.
- [3]. E. R. Dowski, W. T. Cathey, “Extended depth of field through wavefront coding”, *Appl Opt*, Vol. 34, pp. 59-66, 1995.
- [4]. V. N. Le, Z. Fan, N. P. Minh, and S. Chen, “Optimized square root phase mask used to generate defocus invariant modulation transfer function in hybrid imaging systems”, *Optical Engineering*, Vol.54, pp. 035103, 2015.
- [5]. U. Akpınar, E. Sahin, M. Meem, R. Menon, and A. Gotchev, “Learning Wavefront Coding for Extended Depth of Field Imaging”, *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol. 30, pp 3307–3320, 2021.
- [6]. P. Zammit, A. R. Harvey, G. Carles, “Extended depth-of-field imaging and ranging in a snapshot”, *Optica*, Vol. 1, pp. 209-216, 2014.